

Streszczenie rozprawy doktorskiej

**Chromatograficzne metody ekstrakcji i oznaczania patuliny w owocach głogu (*Crataegus* spp.)
stanowiących składniki żywności funkcjonalnej i suplementów diety**

mgr inż. Anna Przybylska

Promotor: Prof. dr hab. Grzegorz Bazylak

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było opracowanie nowych chromatograficznych metod mikroanalitycznych przydatnych do wiarygodnej oceny zawartości niewielkich ($< 10 \mu\text{g/kg}$) ilości patuliny w żywności funkcjonalnej uzyskiwanej z owoców głogu. Celem pracy była także ocena stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego suplementów diety i mieszanek ziołowych zawierających suszone owoce głogu oraz zawartości bioaktywnych metabolitów wtórnych i składu podstawowych mikroelementów w wodnych naparach uzyskanych z w/w produktów.

W części doświadczalnej wykorzystano metody ekstrakcji do fazy stałej (SPE), wysokosprawną chromatografię cienkowarstwową (HPTLC), gradientową ultra-wysokosprawną chromatografię cieczową sprzężoną z tandemowym spektrometrem mas (SPE-UHPLC-MS/MS), skaningową (SEM) oraz transmisyjną (TEM) mikroskopię elektronową, spektrometrię mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS/MS), metody spektrofotometryczne, miareczkowe, potencjometryczne, ale również metody płytkowe (analiza mikrobiologiczna).

W pierwszej części pracy porównano selektywność oraz wydajność ekstrakcji SPE patuliny z mieszaniny modelowej, soku jabłkowego oraz z owoców głogu przy użyciu sześciu różnych komercyjnie dostępnych kolumniek SPE różniących się rodzajem adsorbentu i nowo opracowanej w badaniach własnych metody SPE, w której wykorzystano dwa rodzaje niemodyfikowanych wielościennych nanorurek węglowych różniących się morfologią i parametrami fizykochemicznymi. Stwierdzono, że najwyższy odzysk patuliny (75%) uzyskuje się stosując kolumnkę SPE zawierającą wielościenne nanorurki węglowe o średnicy $2 \div 6 \text{ nm}$ i długości $0,1 \div 10,0 \mu\text{m}$. Otrzymane ekstrakty SPE analizowano metodą HPTLC, co umożliwiło oznaczenie patuliny w zakresie od 40 do $500 \mu\text{g/L}$. Istotnym osiągnięciem było oznaczenie nieznanej dotychczas zawartości patuliny w suplementach diety, mieszanek ziołowych i owocach głogu przy pomocy nowo opracowanej metody analitycznej z wykorzystaniem kolumniek SPE wypełnionych kompozytem polimerowym MycoSep®228AflaPat oraz techniki gradientowej UHPLC-MS/MS. Obecność patuliny (średnio $13,74 \pm 19,58 \mu\text{g/kg}$) stwierdzono w większości badanych produktów (90%), pomimo tego, że spełniały one kryteria czystości mikrobiologicznej określone wymaganiami Farmakopei Polskiej (X). W drugim etapie badań stwierdzono, że wodne napary uzyskane z analizowanych suplementów diety i mieszanek ziołowych są bogatym źródłem różnych hydroksykwasów, które prawdopodobnie przyczyniają się do ograniczenia zawartości patuliny w tego typu produktach. Uzyskane wyniki wskazują ponadto, że występuje zwiększona bioakumulacja Zn, Cu, Fe i Mn w owocach głogu, które stosowane są do produkcji suplementów diety i mieszanek ziołowych, co stanowi czynnik abiotyczny ograniczający tempo wzrostu endofitycznych szczepów *Penicillium expansum* i występowania patuliny w tych owocach. Wyznaczona za pomocą metod spektrofotometrycznych DPPH oraz ABTS znaczna aktywność antyoksydacyjna wodnych naparów uzyskanych z badanych produktów funkcjonalnych była istotnie skorelowana z zawartością związków polifenolowych, flawonoidowych oraz jonów Mn^{2+} .

Przeprowadzone badania wskazują na konieczność wykorzystania osiągnięć nanotechnologii platformowych (metagenomiki, proteomiki, nutreogenomiki) do opracowania nowych sposobów skutecznego zmniejszenia bądź eliminacji patuliny z suplementów diety i innych produktów zawierających owoce głogu, co pozwoliłoby na ograniczenie ryzyka negatywnych i odległych skutków zdrowotnych spowodowanych systematycznym lub przypadkowym spożyciem tej mikotoksyny, szczególnie przez ciągle zwiększającą się w Polsce grupę pacjentów kardiologicznych i osób starszych.

Anna Przybylska